

噻替派(Thio-TEPA)对家蝇(*Musca vicina* Macquart)不育机制的初步观察*

滕 斌

(山东中医学院寄生虫学教研组)

摘要 (一) 本文利用 Thio-TEPA 的不同浓度和不同处理时间, 饲喂雌、雄性家蝇成虫, 对雌蝇进行了化学药剂不育机制的研究。

(二) 通过解剖的 552 只(供试者 462 只, 对照者 90 只)家蝇卵巢制片标本的镜检观察, 初步证明 Thio-TEPA 对卵母细胞的发育和生殖腺的再生机能严重地受到抑制和破坏作用, 因而产生了退行性变, 导致不育的效果。卵巢病理形态学的主要变化过程, 乃以滤泡细胞变混浊为先驱, 进而使卵母细胞产生退行性变及细胞数量减少, 最后造成卵巢体内卵母细胞完全消失, 成为无卵泡的卵巢体。同时卵巢体亦呈明显的萎缩。

(三) 饲喂的试药浓度越大和处理的时间越长者, 卵母细胞招致变形所出现的时间越早, 并且使该组所有雌蝇的卵母细胞出现消失时间亦较早。同时, 卵巢体萎缩的程度亦更加明显。反之, 饲喂的试药浓度小和处理时间短者, 不仅卵母细胞的变形和消失的时间较迟, 而且退行性变的进程往往表现了参差性的状态。

(四) 对于卵母细胞产生退行性变进展的不一致性及其可能造成的原因, 进行了讨论和分析。

前 言

近十多年, 昆虫化学不育剂的试验成为防治害虫的新途径。1952 年 Goldsmith 及 Frank 曾用对叶酸产生拮抗作用的氨基喋呤(Aminopterin)使果蝇导致不孕。1957 年 Mitlin 等用抑制细胞分裂毒剂的氨基喋呤、氮芥、秋水仙素及 Podophyllotoxin 等 4 种化合物, 饲养家蝇, 证明前三种化合物对抑制产卵及卵巢发育具有不同程度的效果。1958 年 Mitlin 及 Baroodym 又用家蝇进行了多种化学不育性药剂的研究。1960—1961 年 Labrecque 及其共同工作者研究了对家蝇不育性药剂的种类和效应。1962 年 Piquett 及 Keller 用家蝇进行了化学不育性药的筛选试验。国内张宗炳等(1963)报导了 35 种化合物的筛选结果, 以 Thio-TEPA 对家蝇的不育性效果最佳。

上述工作, 多半致力于家蝇化学不育性药物的筛选, 虽然 Mitlin 提及不育性药剂对家蝇卵巢发育有抑制作用和影响生殖细胞的成熟分裂, 张宗炳(1963)估计对昆虫生殖腺的发育会有一定的影响, 但对不育性药剂导致雌性家蝇卵巢病理形态学变化过程的试验, 尚未见有报导。作者于 1963 年 8 月至 1964 年 2 月间应用 Thio-TEPA 处理雌性家蝇, 进行了卵母细胞的病理变化过程的观察。本文主要介绍雌性家蝇卵巢退行性变过程在镜检下所见的初步结果。

材 料 和 方 法

试验所用家蝇, 系 1963 年 6 月采自济南北园, 在实验室自动控制恒温室(温度 25°—

* 本工作系在山东医学院进行, 承李辉汉副教授指导及组内同志们协助, 育蝇方法蒙张宗炳教授提出意见一并志谢。

27℃, 湿度 60%) 内进行传代饲养的品系。

(一) 饲养方法 成虫饲养在铜丝纱制(46 立方公分)的养蝇笼里, 内置奶粉(加葡萄糖少许)皿和水皿(内放软木一块)各一, 羽化后第 7 天放入产卵皿(引诱雌蝇产卵的物质为幼虫饲料废渣)。每天更换新鲜奶粉、水及引诱产卵物质; 并给以 8—10 小时的光照。幼虫饲养在玻璃圆形罐头瓶内, 内放麦麸 55 克、奶粉 5 克、酵母粉 2 克、加水 85 毫升, 搅拌均匀(张宗炳, 1963), 瓶内放入卵粒 500 个左右, 瓶口盖圆形白铁盖(盖上开一方形铜纱天窗)。并在盖边涂油泥灰, 防止幼虫爬出, 瓶壁上标签写产卵期、卵入瓶期和预计羽化期, 然后置于恒温室的黑暗处。至蛹期的第 5—6 天取出一定数量的蛹, 放入养蝇笼内的湿砂皿上, 以俟羽化。

(二) 试验药物 应用烷化剂 Thio-TEPA (为医学临床抗癌有效药), 系上海海普化学制药厂制备, 为白色鳞片状结晶状物, 熔点 50.5—52.5℃, 可溶于丙酮。浓度的配制采用混合法: 将 10 毫克 Thio-TEPA 溶解于 2 毫升丙酮内, 然后倾入一定量的奶粉中, 待干后充分研匀。用以饲养刚羽化的成虫。

(三) 试验方法 用饲喂法处理雌雄性家蝇成虫, 然后观察雌性家蝇卵巢的病理变化。处理分为以下几组。

- | | |
|-----|--------------------------|
| 第一组 | 0.1% Thio-TEPA 处理 24 小时; |
| 第二组 | 0.5% Thio-TEPA 处理 24 小时; |
| 第三组 | 1.0% Thio-TEPA 处理 24 小时; |
| 第四组 | 0.5% Thio-TEPA 处理 48 小时; |
| 第五组 | 1.0% Thio-TEPA 处理 48 小时; |
| 第六组 | 对照组。 |

试验组处理后, 取出药奶粉皿, 改换正常奶粉皿, 继续饲养, 至第 7 天放入产卵皿。每天检查蝇的死亡数、产卵数及卵的孵化情况(孵化时间以 24 小时为准), 并作记录。处理(停药)后的第 1 或第 2 天, 并逐日捕杀一定量的雌蝇, 进行解剖, 在解剖镜下剥离出卵巢, 摊布在玻片上, 经固定(萧丁氏溶液)、染色(硼砂洋红或铁苏木素溶液)、脱水、透明等制片方法, 在显微镜下观察卵巢和卵母细胞病理形态学的变化。

结 果 与 讨 论

对照组雌蝇卵巢内卵母细胞各期形态发育的观察, 按照 Дербенева-Ухова (1952) 将雌蝇卵母细胞发育过程划分五期作为依据。根据对照组逐日连续解剖的 90 只雌蝇的卵巢制片标本所见(图 1), 不仅卵的发育正常, 而且所产卵粒经过 24 小时(27℃) 均能孵化。

(一) Thio-TEPA 对雌性家蝇卵巢病理形态学的变化过程: 雌蝇经饲喂 Thio-TEPA (不同剂量和处理时间) 一次之后, 即有明显的不育效应, 主要对卵母细胞的发育具有独特的抑制和破坏作用。导致卵巢产生退化性变的过程, 首先影响卵母细胞周围的滤泡细胞变形(图 2), 产生混浊现象; 进而侵犯卵母细胞的内部物质, 卵细胞的发育受到抑制, 在组织形态学上发生了改变, 与滋养细胞的形态不易区分; 其后滋养细胞亦发生变形而产生内部紊乱的现象, 初期呈碎块的点彩状分布于卵母细胞中(图 3), 继之细胞的数目逐渐减少, 剩余的少数细胞则集合于中央, 呈花朵状(图 4a.), 由于滤泡细胞已完全消失, 因而周

围显示透明层。同时，卵母細胞数目亦大为減少。当卵母細胞消失之前，先呈現空泡状 (图 4b.)，以后逐渐消失，最后成为无卵母細胞的卵巢 (图 5)。卵巢体亦相应地萎縮而变小。上述卵巢产生退行性变的进展程度，与試葯的浓度和处理時間的长短有直接关系。

(二) 不同葯物浓度和处理時間对卵巢产生退行性变的关系：試驗結果見表 1。

表 1 Thio-TEPA 对卵母細胞产生退行性变效应的比較 (552 只标本)

处理 时间 (小时)	試驗 浓度 (%)	試驗日期	观察 天数 (天)	解剖 雌蝇 数 (只)	卵母细胞退行性变出現日期					
					滤泡细胞		滤泡细胞变 透明层；卵 母细胞变性	卵母细胞		
					正 常	混 浊		数目 减少*	开始 消失	全部雌蝇完 全消失
24	0.1	1964 年 15/I—10/II	24	174	第 1—2 天	第 3—4 天	第 5—7 天	第 7 天	第 8 天	日期不明显
	0.5	1963 年 6/XII 1964 年 14/I	40	164	第 1 天	第 2—3 天	第 4 天	第 6 天	第 6 天	第 16 天
	1.0	1963 年 6/XII 1964 年 15/I	39	84	第 1 天		第 2—3 天	第 4 天	第 4 天	第 11 天
48	0.5	1963 年 28/XII 1964 年 15/I	15	39		第 2 天		第 2 天	第 2 天	第 3 天
	1.0	1963 年 4/XI—10/XII	35	45		第 1 天		第 1 天		第 3 天**
对照组		1964 年 18/I—5/II	29	90	卵母细胞发育正常，在 24 小时(27℃)內均能孵化					

注：* 两个卵巢內卵母细胞数量減少到 20 个以下者；

** 喂葯后的第 2 天未作解剖制片。

从表 1 得知，通过 552 片卵巢标本的观察和分析，Thio-TEPA 不同的浓度和处理時間对雌蝇卵母細胞退行性变的各期所出現的日期有明显的差异。浓度大而处理時間长的，卵母細胞退行性变出現的日期早；浓度小而处理時間短的，卵母細胞退行性变出現的时期則緩；处理時間相同而浓度不同者，卵母細胞退行性变出現的时间与浓度成正比。所产卵粒均不能孵化(24 小时/25—27℃)。

(三) 葯物不同浓度和处理時間对卵母細胞退行性变的参差問題：在試驗中，从解剖日程上发现試葯組卵母細胞退行性变的进展程度，并非一致 (表 2)。有的在喂葯后数日內对卵母細胞的抑制发育程度有着参差性，有的在整个試驗过程中均出現有抑制发育不同程度的退行性变阶段，还有少数雌蝇当处理后第 10—20 天左右，仍有二次卵母細胞发育为 II—V 期者，甚至有产卵現象，但所产卵粒在 24 小时內均不能孵化。

由表 2 看出，喂葯浓度小而处理時間短的(0.1%/24 小时)，对卵母細胞病变参差期共存的天数較长，卵巢內卵的发育期及数量較多，产卵次数及产卵量亦較多；喂葯浓度大而处理時間长的 (0.5—1.0%/48 小时)，对卵母細胞病变参差期共存的天数較短，并且卵巢內沒有卵发育(終未产卵)。从而表明上述情况的出現与不同的試葯浓度和处理時間有着密切关系。究其原因，可能有下列三点：

1) 可能由于試葯浓度越小者，其基質(奶粉)量相对地增多，因而葯物与奶粉拌合不均匀，又加之处理時間較短，雌蝇个体舐得葯物的机会較少。

表 2 Thio-TEPA 对卵母细胞退化性变参差性的比较 (462 只标本)

处理 时间 (小时)	药物 浓度 (%)	解剖 雌蝇 数 (只)	试验 天数 (天)	在解剖日程上出现滤泡细胞混浊、 卵母细胞变形、数量减少、至卵母细胞 消失等阶段参差性的混合期。		产卵 次数	产卵 粒数	孵化结果 (24小时/27℃)
				日 期	雌蝇数/卵期			
24	0.1	174	24	第 5—24 天	$26 = \frac{12}{II}, \frac{5}{III}, \frac{1}{IV}, \frac{8}{V}$	5	158	未孵化
	0.5	164	40	第 4—14 天	$8 = \frac{2}{II}, \frac{1}{IV}, \frac{5}{V}$	1	5	未孵化
	1.0	84	39	第 2—10 天	$4 = \frac{1}{III}, \frac{3}{V}$	—	—	—
48	0.5	39	15	第 2—4 天	—	—	—	—
	1.0	45	35	—	—	—	—	—

2) 可能由于雌蝇个体在处理时间内舐食量的不同而造成。

3) 可能由于雌蝇个体之间的差异有关。

(四) Thio-TEPA 剂量与家蝇卵巢体萎缩的关系:从表 3 所见,通过 33 只卵巢标本的测量统计,雌蝇卵巢体萎缩的程度似与试药浓度和处理时间有一定关系。处理时间相同而浓度大的,卵巢体之缩小程度显著;浓度相等而处理时间长的,则卵巢体缩小更明显。这可能由于卵母细胞消失的时间越早,卵巢组织萎缩较易;卵母细胞消失时间越迟,卵巢组织萎缩程度则较差。

表 3 Thio-TEPA 剂量对家蝇卵巢体萎缩的影响 (33 只标本)

处理时间(小时)		24			48		对照组
试药浓度(%)		0.1	0.5	1.0	0.5	1.0	
卵巢体	最小者	80×60	36×20	30×20	28×24	25×25	80×72
(μ)	最大者	100×48	60×40	32×20	32×32	28×30	180×160

另外,在供试各组中,成蝇的死亡数较少,但是当处理后第 3、4 天,有的飞行失调而只能爬行,最后仰卧而死。此种现象是否由于药效作用于神经系统所致,尚待进一步观察。

本文仅对雌蝇的不育机制进行了观察,关于雄蝇精巢病变问题,有待进一步研究。

参 考 文 献

张宗炳、曹泽溥、姜永嘉 1963 昆虫不育性药剂的研究 I. 不育性药剂的筛选。昆虫学报 12(4):394—401。
Дербнева-Ухова, В. П. 1952 Мухи и их эпидемиологическое значение. 47—9.
Goldsmith, E. D. & Frank, I. 1952 Sterility in the female fruit fly, *Drosophila melanogaster*, produced by the feeding of a folic-acid antagonist. Amer. Jour. Physiol. 171:726—7.
LaBrecque, G. C. 1960 Tests with compounds effecting house fly metabolism. Jour. Econ. Ent., 53: 802—5.
LaBrecque, G. C. et al. 1961 Studies with three alkylating agents as house fly sterilants. Jour. Econ. Ent. 54:684—9.

- Mitlin, N. et al. 1957 Effect of mitotic poisons on house fly oviposition. *Physiological Zoology* 30:133—6.
- Mitlin, N. & Baroodym, A. M. 1958 The effect of some biologically active compounds on growth of house fly ovaries. *Jour. Econ. Ent.* 51:384—5.
- Piquett, P. G. & Keller, J. C. 1962 A screening method for chemosterilants of the house fly. *Jour. Econ. Ent.* 55:261—2.

A PRELIMINARY OBSERVATION ON THE MECHANISM OF STERILIZATION OF THE HOUSE-FLIES (*MUSCA VICINA* MACQUART) TREATED WITH THIO-TEPA

TUNG BING

(Department of Parasitology, Shangtung Herbs-medical College, Tsinan)

1. The results of the treatments on the house-flies, *Musca vicina* (female and male adults) with the sterilizing chemical, Thio-Tepa in different dilutions and durations were reported.
2. The ovaries of 552 flies, among which 462 treated with Thio-Tepa and 90 untreated for control, were dissected and studied morphologically. The results indicated that the sterility of female house-flies was due to the degeneration of oogonia in the ovaries. The chief patho-morphological changes of the ovary were as follows: The follicles became firstly opaque, the number of oogonia gradually decreased and degeneration followed. Finally, the oogonia completely disappeared and then the ovary entirely atrophied.
3. The degree of degeneration of oogonia is proportional to the dosage of Thio-Tepa and the duration of treatment.
4. The factors that influence the degeneration process of oogonia in the ovary were discussed.

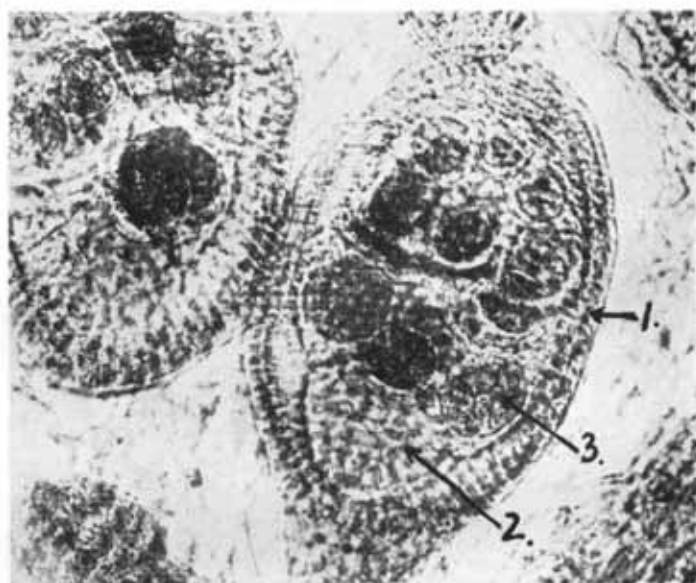


图1 羽化后第3天的正常的卵母细胞II期：卵母细胞由球形发育为椭圆形，滤泡细胞(1)清晰，卵细胞(2)与滋养细胞(3)易于区分。放大270倍。

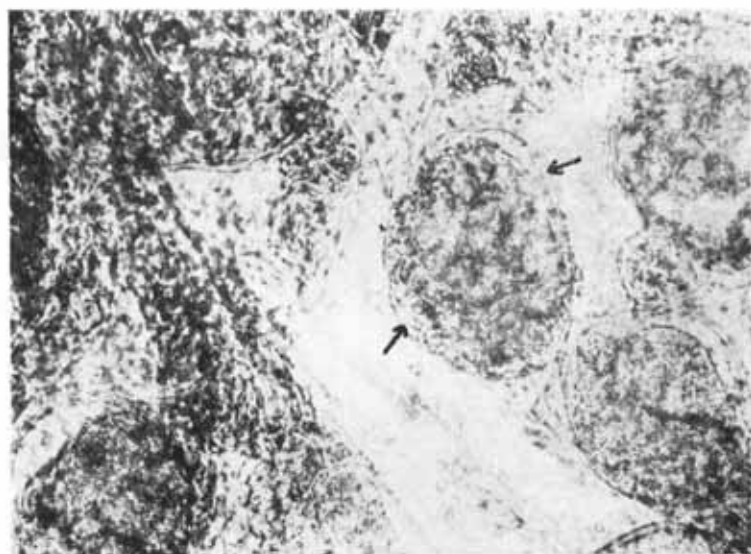


图2 用0.5% Thio-TEPA处理24小时后第2天：滤泡细胞变混浊，卵细胞与滋养细胞不易区分，且整个内容变混浊。放大270倍。

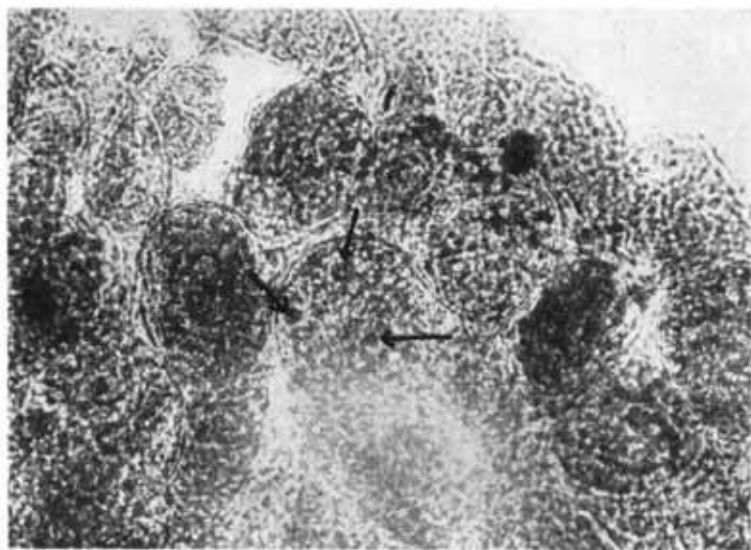


图3 用0.5% Thio-TEPA处理24小时后第3天：卵母细胞因受药物的抑制作用，则仍呈圆球形；滤泡细胞变混浊，卵细胞与滋养细胞不易区分，其内部呈碎块的点彩状。放大270倍。

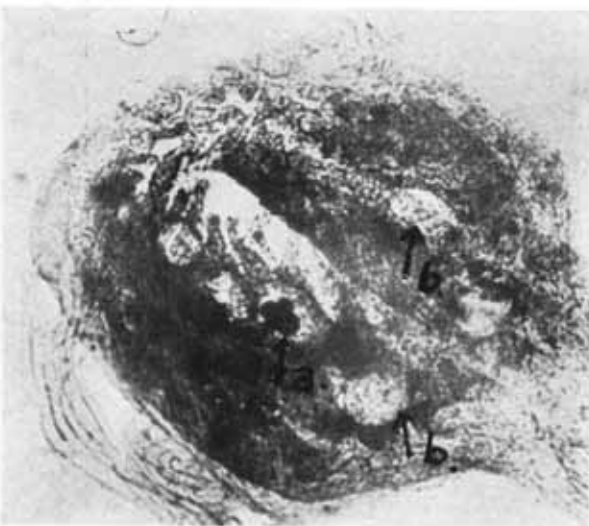


图4 用0.1% Thio-TEPA处理24小时后第7天：卵巢内卵母细胞总数大大减少；卵母细胞(a)内部的细胞数亦减少，且集合于中央呈花朵状，其周围透明；卵母细胞(b)内部的细胞完全消失，呈全透明空泡状。放大90倍。

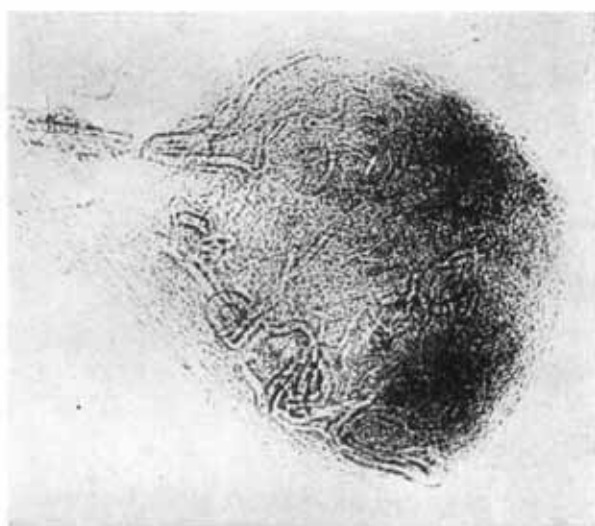


图5 用0.1% Thio-TEPA处理24小时后第8天：卵巢内部的卵母细胞已全部消失，成为无卵泡的卵巢体；卵巢体呈明显的萎缩。放大90倍。